

АНАЛИЗ АССОЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ADRB2 ГЕНА И ФУНКЦИИ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

МИНИНА Е.С.¹, НОВИКОВА В.И.¹, НОВИКОВ П.Д.¹, БАБЕНКО А.С.²

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №2. – С. 71-76.

THE ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF ADRB2 GENE POLYMORPHISM AND EXTERNAL RESPIRATORY FUNCTION IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

MININA E.S.¹, NOVIKOVA V.I.¹, NOVIKOV P.D.¹, BABENKA A.S.²

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(2):71-76.

Резюме.

Цель исследования – изучение роли полиморфного варианта гена ADRB2 (rs1042713) в нарушении функции внешнего дыхания при бронхиальной астме (БА) у детей.

Материал и методы. Группа исследования включала 60 детей в возрасте 3-17 лет с аллергической (n=37) и смешанной формой БА (n=23). Выполнено генотипирование исследуемого локуса гена методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов), оценка контроля БА с использованием опросника Asthma Control Test (ACT).

Результаты. Анализ частот аллелей показал ассоциацию аллеля А с нормальными показателями спирограммы у пациентов с БА (p=0,042). У детей до 12 лет статистически значимо различались показатели спирограммы при сравнении пациентов с генотипами AA и GG (p=0,045). Была выявлена ассоциация аллеля А с отсутствием патологических изменений при оценке результатов спирографии (p=0,021). Была отмечена умеренная положительная корреляция (r=0,615, p=0,011) оценки ночных симптомов (Asthma Control Test) и генотипа полиморфного варианта гена ADRB2 у детей 12 лет и старше.

Заключение. Была выявлена ассоциация полиморфного варианта локуса гена ADRB2 (rs1042713) с функцией внешнего дыхания при объективном исследовании путем спирографии и субъективной оценке данного показателя самим пациентом или его родителями. Данный локус гена может быть включен в целевую панель по БА с целью определения вероятности развития неконтролируемого течения заболевания с нарушением функции внешнего дыхания и в дальнейшем для разработки индивидуальной программы диспансерного наблюдения за пациентом.

Ключевые слова: бронхиальная астма, ADRB2, функция внешнего дыхания.

Abstract.

Objectives. To study the role of the ADRB2 gene polymorphism (rs1042713) in the impaired external respiratory function in children with bronchial asthma (BA).

Material and methods. The study group included 60 children aged 3-17 years with allergic (n=37) and mixed form of BA (n=23). The genotyping of the investigated gene locus was performed by PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism), BA control was exercised using the Asthma Control Test (ACT).

Results. The analysis of allele frequencies showed an association of allele A with normal spirogram parameters in patients with BA (p=0.042). In children under 12 years, there were statistically significant differences in spirogram indices when comparing patients with genotypes AA and GG (p=0.045). An association of allele A with the absence of pathological changes was revealed when evaluating the results of spirometry (p=0.021). There was a moderate positive correlation

($r=0.615$, $p=0.011$) between the assessment of nocturnal symptoms (Asthma Control Test) and the genotype of the ADRB2 gene polymorphism in children aged 12 years and older.

Conclusions. An association of the ADRB2 gene polymorphism (rs1042713) with the external respiratory function was revealed in an objective study by spirometry and a subjective assessment of this indicator by the patient himself/herself or by his/her parents. This gene locus can be included in the BA target panel in order to determine the likelihood of uncontrolled course development of the disease with impaired external respiratory function and in the future to develop an individual program for dispensary observation of the patient.

Key words: bronchial asthma, ADRB2, external respiratory function.

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных аллергических заболеваний у детей, оно приводит к нарушению качества жизни пациентов, инвалидизации, что, в свою очередь, требует больших экономических ресурсов. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в настоящее время от БА страдают более 300 миллионов человек [1].

Согласно Global Initiative for Asthma (GINA) 2020 [2] факторы риска БА подразделяются на внутренние, которые обуславливают предрасположенность человека к развитию данного заболевания, и внешние факторы, приводящие к манифестации заболевания и его обострению впоследствии. Среди эндогенных факторов особый интерес в последнее десятилетие представляет генетическая предрасположенность. Генетические исследования ведутся по различным направлениям для выявления полиморфных вариантов генов, которые ассоциированы с развитием БА, ее патофизиологическими особенностями и ответом на проводимое лечение. БА – гетерогенное заболевание, и не существует одного единственного гена, который играет роль в этих процессах [3]. В настоящее время выявлено более 150 генов, которые ответственны за развитие БА при наличии эндогенных и экзогенных факторов риска [4].

Одним из таких генов является ген $\beta 2$ -адренергического рецептора (ADRB2), который располагается на 5 хромосоме. Среди его полиморфных вариантов большая роль в патогенезе БА отмечена у rs1042713 (Arg16Gly) и rs1042714 (Gln27Glu) [5]. Литературные данные относительно роли этих SNP-вариантов (SNP – single nucleotide polymorphism) противоречивы и зависят от этнической принадлежности пациентов. В многочисленных зарубежных исследованиях была отмечена роль полиморфных вариантов гена в развитии тяжелой неконтролируемой БА, нарушении функции внешнего дыхания [6], наличии ночных симптомов заболевания [7], снижении

чувствительности к препаратам $\beta 2$ -агонистов [8].

В настоящем исследовании приводятся наши данные по rs1042713 (Arg16Gly) варианту гена ADRB2 у детей с БА в Республике Беларусь (Витебская область).

Материал и методы

Дизайн исследования: одноцентровое открытое проспективное исследование. Выполнялось на базе аллергологического отделения УЗ «Витебский областной детский клинический центр» (ВОДКЦ) в 2020-2021 гг.

Критерии включения в исследуемую группу: возраст 3-17 лет, установленный клинический диагноз БА, получение письменного информированного согласия родителей/опекунов на добровольное участие ребенка в исследовании.

Критерии исключения: отказ от участия в исследовании.

Исследование было одобрено комитетом по этике клинических испытаний учреждения образования «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет».

Характеристика группы исследования. Группа исследования включала 60 детей в возрасте 3-17 лет ($9,7 \pm 3,3$ лет), больных аллергической ($n=37$) и смешанной формой БА (аллерген-индуцированная, индуцированная физической нагрузкой) ($n=23$). Среди участников исследования был 41 мальчик ($9,6 \pm 3,3$ лет) и 19 девочек ($10,0 \pm 3,5$ лет). По степени тяжести и течению заболевания группа состояла преимущественно из персистирующей БА легкой степени тяжести (81,7%). Диагноз был выставлен согласно клиническому протоколу Республики Беларусь по диагностике и лечению аллергических заболеваний 2014 г. и обоснован на данных анамнеза, клинических проявлениях, лабораторном, инструментальном и иммунологическом обследовании. Все дети находились на лечении в аллергологическом от-

делении ВОДКЦ, были обследованы клинически и лабораторно. 36 пациентов получали базисное медикаментозное лечение БА: 27 пациентов – монотерапию ингаляционными глюкокортикостероидами или их комбинация с β 2-агонистами длительного действия / антилейкотриеновыми препаратами, 9 пациентов – монотерапию антилейкотриеновыми препаратами.

Определение генотипа гена-мишени методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Материалом для исследования послужили образцы соскобного материала и отделяемого слизистой оболочки ротоглотки, забор материала осуществляли цитощеткой. Выделение геномной ДНК выполнялось сорбционным методом с использованием набора реагентов «Нуклеосорб. Комплектация А» (кат. № 005a.2, ОДО «Праймтех», Беларусь), согласно протоколу производителя.

Для определения генотипа гена-мишени (ADRB2, rs1042713) в биологических образцах использовали метод ПЦР-ПДРФ с последующим разделением полученных фрагментов в агарозном геле. Для ПЦР целевой последовательности использовали олигонуклеотидные праймеры, описанные в работе J.W. Holloway и др., 2000 г. [9]. Последовательность прямого олигонуклеотидного праймера – 5'-CCTTCTTGCTGGCACCCCAT-3', обратного олигонуклеотидного праймера – 5'-GGAAGTCCAAACTCGCACCA-3'.

Конечный объем реакционной смеси составил 25 мкл и содержал необходимые реагенты в следующих концентрациях: 0,1 мМ смеси дНТФ, 2 мМ раствора $MgCl_2$, 1 ед. термостабильной Taq ДНК-полимеразы с соответствующим буферным раствором из комплекта предоставляемого производителем фермента – PrimeTaq ДНК-полимераза, с буферами кат. № 1801.4 (ОДО «Праймтех», Беларусь), 500 нМ олигонуклеотидных праймеров (АО «ГенТерра», Россия). Реакцию проводили с использованием твердотельного амплификатора T100 (BioRad, США). Температурный режим: +95°C – 2 минуты, а затем 32 цикла +95°C – 5 секунд, +58°C – 10 секунд и +72°C – 30 секунд. Конечный этап +72°C – 5 минут.

Рестриктию проводили с использованием фермента NcoI-HF® (NEB, США) кат. № R3193S с CutSmart буферным раствором, согласно протоколу производителя. Для проведения 1 реакции использовали 5 ед. активности фермента. Объем реакционной смеси составлял 25 мкл.

Разделение фрагментов приводили в 3%

агарозном (ОДО «Праймтех», Беларусь, кат. № 0032.2) геле с использованием 1х TAE буферного раствора (ЗАО «Евроген», Россия, кат. № РВ022).

Оценка функции внешнего дыхания. Проводили спирографию с использованием спирометра «МАС-1» на 2-й день пребывания в стационаре.

Оценка контроля БА по данным опросника Asthma Control Test (ACT). Уровень контроля (в баллах) БА по данным опросника АСТ оценивали при поступлении детей в стационар. Для детей 12 лет и старше пользовались стандартным тестом, который включал 5 вопросов, для детей до 12 лет использовался тест из 7 вопросов.

Проводили оценку общего балла АСТ-теста и по отдельным вопросам у детей 12 лет и старше (вопрос №2 – затрудненное дыхание, №3 – ночные симптомы, №4 – использование β 2-агонистов) и у детей до 12 лет (вопросы №5 – дневные симптомы, №7 – ночные симптомы).

У детей 12 лет и старше результат 25 баллов свидетельствует о том, что пациент достиг полного контроля над БА за последние 4 недели. При получении результатов 20-24 балла можно считать, что данное заболевание хорошо контролируемое, но не полностью. Если же результат менее 20 баллов, то это свидетельство того, что контролировать БА не удастся.

У детей до 12 лет результат 20 баллов и больше свидетельствует о том, что пациенту удастся эффективно контролировать БА (максимальный балл – 27). При результате менее 20 баллов следует считать, что контролировать БА эффективно не удастся.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ данных производили с помощью программы Statistica 10.0. К количественным признакам, имеющим распределение, отличное от нормального, применяли непараметрические методы и использовали критерий Манна-Уитни (при сравнении 2-х независимых групп). Для анализа частот генотипов и аллелей использовали критерий χ^2 Пирсона и двусторонний критерий Фишера. Для определения меры связи количественных параметров использовали анализ ранговой корреляции Спирмена с уровнем статистической значимости (p) <0,05.

Результаты и обсуждение

Группа исследования включала 60 детей с аллергической и смешанной формой БА, с установленной сенсibilизацией к бытовым, эпидер-

мальным, пылевым и пищевым аллергенам. У пациентов со смешанной формой БА отмечалось более тяжелое течение заболевания ($p=0,021$), у более 70% детей БА плохо контролировалась по данным АСТ-теста. Среди аллергических заболеваний в исследуемой группе наиболее часто встречался аллергический ринит (АР), также наблюдались атопический дерматит, крапивница. Следует отметить, что практически у всех детей (95%) в группе исследования были выявлены экзогенные факторы риска, способствующие развитию БА и провоцирующие ее обострение (табл. 1).

В процентном отношении в группе исследования и подгруппах детей с аллергической и смешанной формами БА преобладали гомозиготы по дикому типу (GG) и аллель G (табл. 2, 3).

Статистически значимых различий по частоте генотипов и аллелей в зависимости от формы БА установлено не было (табл. 3).

В группе исследования по данным спирометрии различий в зависимости от генотипа выявлено не было ($p>0,05$), однако анализ частот аллелей показал ассоциацию А с нормальными показателями спирограммы (норма/ обструктивные изменения: А – 21/4, G – 35/24, $p=0,042$).

У детей до 12 лет статистически значимо различались показатели спирограммы при сравнении пациентов с генотипами AA и GG ($p=0,045$). В данной возрастной группе при анализе частот аллелей была выявлена ассоциация А с отсут-

Таблица 1 – Клиническая характеристика группы исследования

Показатель	Аллергическая форма БА (n=37)		Смешанная форма БА (n=23)		p
	n	%	n	%	
Половозрастной состав, M±SD	мужской пол = 27 женский пол = 10 9,5±2,9 лет		мужской пол = 14 женский пол = 9 10,0±3,9 лет		0,438
Место жительства:					0,749
- город	31/37	83,8%	19/23	82,6%	0,982
- село	-	-	1/23	4,4%	
- поселок	6/37	16,2%	3/23	13,0%	
Степень тяжести и течение БА:					0,021
- легкая интермиттирующая	2/37	5,4%	-	-	0,021
- легкая персистирующая	34/37	91,9%	15/23	65,2%	
- средняя персистирующая	1/37	2,7%	7/23	30,4%	
- тяжелая персистирующая	-	-	1/23	4,4%	
Стаж заболевания, M±SD	4,1±3,7 лет		3,6±3,9 лет		0,476
Отягощенная наследственность по БА	23/37	62,2%	11/23	47,8%	0,352
Жилищно-бытовые условия, способствующие действию экзогенных факторов риска:					0,042
- окна, выходящие на дорогу/промышленное предприятие	23/37	62,2%	22/23	95,7%	
- наличие домашних животных					
- наличие в месте проживания ковров / перьевых подушек / книжных полок / растений в горшках с землей	22/37	59,5%	15/23	65,2%	0,589
	29/37	78,4%	21/23	91,3%	0,049
Сопутствующий АР	20/37	50,1%	10/23	43,5%	0,395
Другие сопутствующие аллергические заболевания (атопический дерматит, крапивница)	9/37	24,3%	5/23	21,7%	0,415
Уровень общего IgE, МЕ/мл, M±SD	489,3±372,6 n=30		576,1±364,5 n=18		0,463
Обструктивные изменения по данным спирометрии	8/29	27,6%	6/19	31,6%	0,727
Неконтролируемое течение БА по данным АСТ (<20 баллов)	10/37	27,0%	17/23	73,9%	0,002

Примечание: p – критерий Манна-Уитни.

Таблица 2 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена ADRB2 в группе исследования (n, %)

Показатель	Группа исследования (n=60)		
	AA	AG	GG
Частота встречаемости генотипа	8 13,3%	20 33,3%	32 53,4%
Частота встречаемости аллели А	36 30%		
Частота встречаемости аллели G	84 70%		

Таблица 3 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена ADRB2 в зависимости от формы БА (n, %)

Показатель	Аллергическая форма БА (n=37)			Смешанная форма БА (n=23)		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG
Частота встречаемости генотипа *	4 10,8%	15 40,5%	18 48,7%	4 17,4%	5 21,7%	14 60,9 %
Частота встречаемости аллелей: **						
Аллель А	23 31,1%			13 28,3%		
Аллель G	51 68,9%			33 71,7%		

Примечание: * – $\chi^2=2,362$, $p=0,307$; ** – $\chi^2=0,015$, $p=0,903$.

ствием патологических изменений при оценке результатов спирографии (норма/ обструктивные изменения: А – 15/3, G – 19/19, $p=0,021$).

Выявлена умеренная положительная корреляция ($r=0,615$, $p=0,011$) балла по вопросу №3 (ночные симптомы) и генотипа полиморфного варианта гена ADRB2 у детей 12 лет и старше.

Заключение

Среди генотипов ADRB2 (rs1042713) у детей с БА преобладали гомозиготы GG. В ходе проведенного исследования была выявлена ассоциация полиморфного варианта локуса гена с функцией внешнего дыхания при объективном исследовании путем спирографии и субъективной оценки данного показателя самим пациентом или его родителями. В данной выборке пациентов частотный анализ аллелей выявил положительную роль наличия мутантного аллеля А в генотипе при оценке функции внешнего дыхания. ADRB2 (rs1042713) может быть включен в таргетную панель по БА с целью определения вероятности развития неконтролируемого течения заболевания с нарушением функции внешнего дыхания и в дальнейшем для разработки индивидуальной программы диспансерного наблюдения за пациентом.

Также нами было отмечено большое ко-

личество экзогенных факторов риска, которые способствуют реализации генетического фактора и утяжеляют течение БА. Комплексная профилактика и лечение пациентов с БА, помимо медикаментозного лечения, должны включать рекомендации по гипоаллергенному быту и диете, проведению элиминационных мероприятий для предотвращения негативного влияния генетических предикторов заболевания.

Информация об источнике поддержки: исследование выполнено в рамках внутриуниверситетского научного стартап-гранта для молодых ученых на 2020 год, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about the source of support: the study was carried out within the framework of an intrauniversity scientific startup grant for young scientists for 2020, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Литература

1. Vsemirnaia organizatsiia zdavookhraneniia. Asthma. Available from: <https://www.who.int/ru/news-room/factsheets/detail/asthma>. [Accessed 10th Apr 2021]. (In Russ.)
2. Global initiative for asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2020. Available from: <https://ginasthma.org/reports/>. [Accessed 10th Apr 2021].

3. Astafeva NG, Shamgunova BA, Kobzev DIu, Mikhailova IE. Associative connections between atopia, HLA complex genes and other genes. Ros Allergol Zhurn. 2019;16(3):5-25. (In Russ.)
4. Minina ES, Novikova VI; M-vo obrazovaniia Resp Belarus', UO Viteb gos ordena Druzhyby narodov med un-t. Bronchial asthma in children: Features of treatment and rehabilitation: monografiia. Vitebsk, RB: VGMU; 2017. 274 p. (In Russ.)
5. Saveleva ON, Karunas AS, Fedorova Iulu, Khusnutdinova EK. Pharmacogenetics of bronchial asthma. Med Genetika. 2019;18(4):3-23. (In Russ.)
6. Almomani BA, Al-Eitan LN, Al-Sawalha NA, Samrah SM, Al-Quasmi MN. Association of genetic variants with level of asthma control in the Arab population. J Asthma Allergy. 2019

- Jan;12:35-42. doi: 10.2147/JAA.S186252
7. Dai L-M, Wang Z, Zhang Y, Liu L, Fang L, Zhang J. Relationship between the locus 16 genotype of beta 2 adrenergic receptor and the nocturnal asthma phenotype Sichuan. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2004 Jan;35(1):32-4.
8. Finkelstein Y, Bournissen FG, Hutson JR, Shannon M. Polymorphism of the ADRB2 gene and response to inhaled beta-agonists in children with asthma: a meta-analysis. J Asthma. 2009 Nov;46(9):900-5. doi: 10.3109/02770900903199961
9. Holloway JW, Dunbar PR, Riley G, Sawyer GM, Fitzharris PF, Pearce N, et al. Association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with severe asthma. Clin Exp Allergy. 2000 Aug;30(8):1097-103. doi: 10.1046/j.1365-2222.2000.00929.x

Поступила 11.02.2021 г.

Принята в печать 15.04.2021 г.

References

1. Vsemirnaia organizatsiia zdravookhraneniia. Asthma. Available from: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/asthma>. [Accessed 10th Apr 2021]. (In Russ.)
2. Global initiative for asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2020. Available from: <https://ginasthma.org/reports/>. [Accessed 10th Apr 2021].
3. Astafeva NG, Shamgunova BA, Kobzev DIu, Mikhailova IE. Associative connections between atopia, HLA complex genes and other genes. Ros Allergol Zhurn. 2019;16(3):5-25. (In Russ.)
4. Minina ES, Novikova VI; M-vo obrazovaniia Resp Belarus', UO Viteb gos ordena Druzhyby narodov med un-t. Bronchial asthma in children: Features of treatment and rehabilitation: monografiia. Vitebsk, RB: VGMU; 2017. 274 p. (In Russ.)
5. Saveleva ON, Karunas AS, Fedorova Iulu, Khusnutdinova EK. Pharmacogenetics of bronchial asthma. Med Genetika. 2019;18(4):3-23. (In Russ.)

- 2019;18(4):3-23. (In Russ.)
6. Almomani BA, Al-Eitan LN, Al-Sawalha NA, Samrah SM, Al-Quasmi MN. Association of genetic variants with level of asthma control in the Arab population. J Asthma Allergy. 2019 Jan;12:35-42. doi: 10.2147/JAA.S186252
7. Dai L-M, Wang Z, Zhang Y, Liu L, Fang L, Zhang J. Relationship between the locus 16 genotype of beta 2 adrenergic receptor and the nocturnal asthma phenotype Sichuan. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2004 Jan;35(1):32-4.
8. Finkelstein Y, Bournissen FG, Hutson JR, Shannon M. Polymorphism of the ADRB2 gene and response to inhaled beta-agonists in children with asthma: a meta-analysis. J Asthma. 2009 Nov;46(9):900-5. doi: 10.3109/02770900903199961
9. Holloway JW, Dunbar PR, Riley G, Sawyer GM, Fitzharris PF, Pearce N, et al. Association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with severe asthma. Clin Exp Allergy. 2000 Aug;30(8):1097-103. doi: 10.1046/j.1365-2222.2000.00929.x

Submitted 11.02.2021

Accepted 15.04.2021

Сведения об авторах:

Минина Е.С. – к.м.н., ассистент кафедры педиатрии, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;

Новикова В.И. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой педиатрии ФПК и ПК, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;

Новиков П.Д. – д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;

Бабенко А.С. – к.х.н., доцент кафедры биоорганической химии, Белорусский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Minina E.S. – Candidate of Medical Sciences, lecturer of the Chair of Pediatrics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Novikova V.I. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Pediatrics of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Novikov P.D. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Clinical Immunology and Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Babenka A.S. – Candidate of Chemical Sciences, associate professor of the Chair of Bioorganic Chemistry, Belarusian State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра педиатрии. E-mail: minina.e.s@mail.ru – Минина Елена Сергеевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pediatrics. E-mail: minina.e.s@mail.ru – Elena S. Minina.